在酿酒酵母中研究人类 mOGT 基质导向序列的功能*

李凤 高晓冬 中西秀树**

（江南大学糖化学与生物技术教育部重点实验室 无锡 214122）

摘要 人类线粒体 N-乙酰氨基葡萄糖转移酶（mitochondrial *O*-GlcNAc transferse, mOGT）通过其 N 端基质导向序列(matrix targeting sequence，MTS）定位于线粒体内膜上，mOGT 的过表达将导致细胞的凋亡。蛋白质的 *O*-GlcNAc 修饰存在于绝大多数真核生物中，而酿酒酵母唯独缺乏该修饰途径。对人体 mOGT 过表达引起酿酒酵母生长缺陷的机理进行分析，期望利用该模型研究 mOGT 导致的细胞凋亡调控机制。在酿酒酵母细胞中表达人体 mOGT 及其截短序列发现：mOGT 对酿酒酵母的生长抑制及细胞中的定位依赖于 N 端全长的 MTS 序列；MTS 序列在酿酒酵母中共表达导致线粒体融合。MTS 序列过表达的酿酒酵母菌可以作为研究 mOGT 引起细胞凋亡的模式细胞。

关键词 人类 mOGT 基质导向序列 线粒体融合

蛋白质的 O-连接 N-乙酰氨基葡萄糖修饰在真核细胞的多数生理活动中发挥着重要的作用[1]，以 UDP-GlcNAc 为底物，N-乙酰氨基葡萄糖转移酶（O-linked N-acetylglucosamine transferase, OGT）催化 GlcNAc 添加到蛋白质氨基酸序列中特定的丝氨酸或苏氨酸残基上。UDP-GlcNAc 由氨基己糖代谢途径产生（hexosamine biosynthetic pathway，HBP），该途径大约占整个细胞糖代谢流的 2-4%[2]。细胞内的 *O*-GlcNAc 糖基化修饰是由糖基转移酶 OGT 和 N-乙酰氨基葡萄苷酶（*O*-GlcNAcase, OGA）共同完成的动态修饰过程。异常的 *O*-GlcNAc 糖基化修饰通常和许多疾病的发生存在重要的联系，例如糖尿病[3]，癌症[4]，心血管疾病[5]，阿兹海默症[6]等。

尽管在人体中 OGT 是由单一基因编码的，但经过 mRNA 的剪辑后翻译产生了三种亚型的 *O*-GlcNAc 糖基转移酶[7]，根据其定位的特异性分别命名为核质 *O*-GlcNAc 糖基转移酶（nuclear cytoplasma *O*-GlcNAc transferse, ncOGT）和短 *O*-GlcNAc 糖基转移酶（short *O*-GlcNAc transferse, sOGT）、位于线粒体的 *O*-GlcNAc 糖基转移酶（mitochondrial *O*-GlcNAc transferse, mOGT）。体内实验显示 mOGT 定位于线粒体，且 mOGT 具有催化蛋白质 *O*-GlcNAc 糖基化修饰的活性[7]，线粒体蛋白质的 *O*-GlcNAc 修饰调控着细胞各方面的功能[8-10]。同时根据晶体结构分析，OGT 可以初步分为 N 端的 TPR 结构域和 C 端的催化结构域（图 1），三个亚型之间的主要区别在 N 端，其中 ncOGT 含有 12 个 TRP 重复序列，sOGT 含有 2.5 个 TRP 重复序列，mOGT 含有负责线粒体定位 MTS 序列和 9 个 TRP 重复序列[11]。

* 国家自然科学基金（批准号：21576118）资助项目
**通讯作者，电子邮箱：hideki@jiangnan.edu.cn

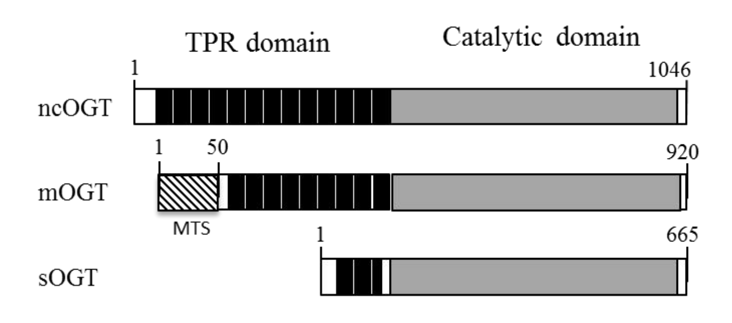


图 1 OGT 结构示意图

Figure 1 The structure schematic of OGT

目前报道的线粒体中被 *O*-GlcNAc 修饰的蛋白多数属于核 DNA 编码的蛋白质，然而研究发现线粒体 DNA 编码的蛋白质也存在被 *O*-GlcNAc 修饰的现象，例如线粒体呼吸链复合物 IV 的亚基 I[10]，细胞色素氧化酶 2（cytochrome oxidase 2，COX2）及 NADH:辅酶 Q 氧化还原酶核心亚基 4（NADH：ubiquinone oxidoreductase core subunit 4，MTND4）等[12]，从而进一步证明在线粒体中 mOGT 可能调控着线粒体内蛋白质的 *O*-GlcNAc 修饰过程。

尽管在大多数真核生物中存在蛋白质 *O*-GlcNAc 修饰，而酿酒酵母中并不存在具有催化 *O*-GlcNAc 修饰的酶，取而代之的是和 *O*-GlcNAc 类似的 *O*-mannose 修饰[13]。人类细胞中同时表达有 ncOGT、sOGT 和 mOGT 三种亚型，因而对单一亚型的底物特异性和调控机制的研究会受到其他亚型的影响。本研究室通过在酿酒酵母 YPH499 中表达人源 sOGT 和 OGA，在其胞内重构了人体蛋白质的 *O*-GlcNAc 修饰循环过程[14]，且 mOGT 的表达亦具有催化 *O*-GlcNAc 修饰的活性[15]。然而，mOGT 对酿酒酵母的抑制作用并非完全依赖于其催化活性。本研究以酿酒酵母为载体研究人体 mOGT 的 N 端基质导向序列对 mOGT 定位及其对酿酒酵母生长抑制机理进行解析，以期为 mOGT 基质导向序列的功能研究提供证据。

1. 材料与方法

1.1 菌株及质粒

酿酒酵母菌株 *Saccharomyces cerevisiae* YPH499，其基因型为 *MATa ura3-52 lys2-801 ade2-101 trp1-Δ63 his1-Δ200 leu2-Δ1*，表达载体 pRS424GAL1*pr* 及 pRS426TEF2pr[15]。

表 1 该研究所用的质粒和引物

Table 1 plasmids and primers

质粒/引物	说明/基因型/引物序列（5′-3′）	来源
质粒		
pRS424GAL1*pr*	TRP1 标记 多拷贝 GAL1 启动子	[16]
pRS424GAL1*pr*-mOGT	TRP1 标记 多拷贝 GAL1 启动子 含 mOGT	[17]
pRS424GAL1*pr*-mOGT-RFP	TRP1 标记 多拷贝 GAL1 启动子 含 C 端 RFP 标记的 mOGT 基因	本研究

pRS424GAL1*pr*-mOGT（NΔ50）	TRP1 标记 多拷贝 GAL1 启动子 含 mOGT（NΔ50）基因	本研究
pRS424GAL1*pr*- MTS15-RFP	TRP1 标记 多拷贝 GAL1 启动子 含 MTS15-RFP	本研究
pRS424GAL1*pr*- MTS50-RFP	TRP1 标记 多拷贝 GAL1 启动子 含 MTS50-RFP	本研究
pRS426TEF2pr	URA3 标记 多拷贝 TEF2 启动子	[18]
pRS426TEF2pr-OGA	URA3 标记 多拷贝 TEF2 启动子 含 OGA 基因	[14]
引物		
OGA-F(*Cla* Ⅰ)	GCGCATCGATATGGTGCAGAAGGAGAGTCA	本研究
OGA-R (*Xho* Ⅰ)	GCGCCTCGAGCTACAGGCTCCGACCAAGTA	本研究
MTS15-F(*Spe* Ⅰ)	GCGCACTAGTATGCTGCAGGGTCACTTTTGGCTGGTCAGAGAAGGAATAATGATAAAAGGAGAAGAACTTTTCAC	本研究
MTS50-F(*Xba* Ⅰ)	GCGCTCTAGAATGCTGCAGGGTCACTTTTG	本研究
MTS50-R(*Hind* Ⅲ)	GCGCAAGCTTAGGAGGGGTTAATGAAAGAA	本研究
mOGT-R(*Hind* Ⅲ)	GCGCAAGCTTTGCTGACTCAGTGACTTCAA	本研究

1.2 培养基及溶液的配制

1.2.1 YPAD 培养基 酵母抽提物 20 g/L，蛋白胨 10 g/L，腺嘌呤 30 mg/L，琼脂粉 20 g/L（固体培养基），葡萄糖 20 g/L。

1.2.2 SD 培养基 YNB 6.7 g/L，氨基酸缺陷型粉末 2 g/L，葡萄糖 20 g/L，琼脂粉 20 g/L（固体培养基），SG 培养基是用半乳糖代替葡萄糖为碳源。培养基经高压蒸汽灭菌后加入氨基酸缺陷型粉末[14]。

1.2.3 细胞裂解液 尿素 8 M/L，Tris-HCl（pH 7.5）10 mM/L，NaCl 0.15 M/L。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞生长分析

将质粒转入酿酒酵母 YPH 499 中，涂布相应的氨基酸缺陷型平板筛选获得阳性单克隆，并利用菌落 PCR 验证质粒转入的阳性单克隆。将阳性单克隆菌株接种于相应的氨基酸缺陷型液体培养基过夜培养，待菌体 OD660 为 0.8-1.0 时收集菌体，重悬于无菌水中，分别在以葡萄糖或半乳糖为碳源的平板上点板，分析不同蛋白的表达对酿酒酵母生长的影响[15]。

1.3.2 线粒体荧光探针标记

线粒体荧光探针标记过程详细见说明书（碧云天 线粒体绿色荧光探针），菌体在半乳糖培养基中培养 3 小时后，收集 5 mL 培养物并用 PBS 洗涤三次；将细胞重悬于 5 mL 含有线粒体荧光探针的 PBS 溶液中，在 30℃摇床中暗培养一小时；离心收集细胞，用 PBS 洗涤三次；细胞重悬于 1 mL 冰上预冷的 PBS 溶液，利用荧光显微镜观察线粒体的荧光信号。

2. 结果与分析

2.1 mOGT 过表达引起的酿酒酵母细胞的生长缺陷不依赖于其催化活性

作者根据报道的人体 mOGT 的 cDNA 序列设计引物[17]，从人体肝脏 cDNA 文库中扩增出 mOGT 序列。本研究室前期的实验已经证实在 ncOGT 及 sOGT 过表达细胞中，共表达的人体 OGA 具有催化蛋白质上 *O*-GlcNAc 水解的活性[14]，然而，过表达 mOGT 导致的酿酒酵母生长缺陷并不依赖于其催化活性[15]。作为催化 *O*-GlcNAc 降解的 OGA 主要定位在细胞质中，目前尚未确切报道过 OGA 能定位于线粒体中。OGA 转运蛋白存在于线粒体中[19]，*O*-GlcNAc 修饰的动态平衡过程也极有可能在线粒体中发生。

如果 mOGT 对酿酒酵母的生长抑制是依赖于对 *O*-GlcNAc 的催化活性，那么 OGA 的过表达可能会回复 mOGT 导致的酵母细胞生长缺陷。在酿酒酵母 YPH499 中过表达 mOGT 及活性突变体 mOGT（H382A），对照组中葡萄糖的存在抑制了半乳糖启动子的表达，mOGT 和 mOGT（H382A）的表达被抑制，所有的酵母细胞表现出均一的长势；当以半乳糖为唯一碳源时 mOGT 被诱导表达，单独表达 mOGT 时酿酒酵母的生长缺陷明显，OGA 的共表达并不能回复 mOGT 或 mOGT（H382A）引起的酵母生长缺陷（图 2）。既然 OGA 不能回复 mOGT 及其活性突变体导致的酵母生长缺陷，进一步证明了 mOGT 对酵母细胞的抑制作用不依赖于其催化活性。

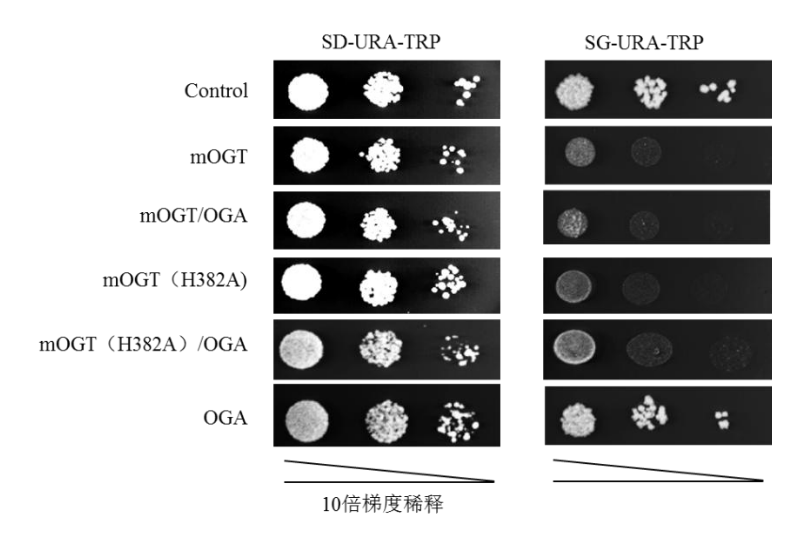


图 2 OGA 不能回复 mOGT 或 mOGT(H382A)导致的酵母生长缺陷

Figure 2 OGA could not rescue the growth defect of either mOGT or mOGT(H382A) expressing yeast cells

2.2 mOGT 对酿酒酵母的抑制作用受其 N 端 MTS 序列的影响

mOGT 导致的酵母生长被抑制的现象是不依赖于其催化活性，因此，我们猜测 mOGT 导致的酵母生长缺陷与其特殊的 N 端 MTS 序列相关。在人体内 mOGT 通过其 N 端的 MTS 序列定位于线粒体中，在酵母细胞中表达 mOGT 及其 N 端 MTS 序列缺失的突变体发现二者对酿酒酵母的生长抑制产生了很大的差异（图 3）。当以半乳糖为唯一碳源时，全长的 mOGT 对细胞的生长表现出极强的抑制作用，然而 N 端截短的 mOGT 的抑制作用明显的减弱。MTS 序列负责 mOGT 在胞内的定位，截短的 mOGT 可能无法正常的定位到线粒体中，

从而以细胞质蛋白的形式存在。从结构上来看截短的 mOGT 的功能类似于 sOGT，因而同样对酵母细胞表现出一定程度的抑制作用。由此可见，mOGT 对酿酒酵母的生长抑制作用依赖于其 N 端 MTS 序列，MTS 序列可能对 mOGT 正常功能的发挥具有重要的作用。

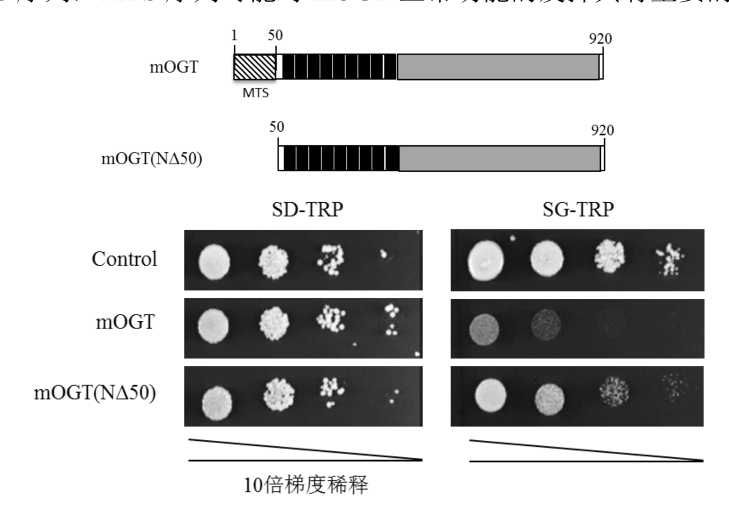


图 3 mOGT 抑制酵母细胞生长依赖 MTS 序列

Figure 3 mOGT caused yeast growth defect depends on its MTS sequence

2.3 人体 mOGT 在酿酒酵母中表达定位于线粒体

将红色荧光蛋白基因（red fluorescence protein，RFP）通过限制性内切酶酶切后连接于 mOGT 的 C 端，将 mOGT-RFP 基因转入酿酒酵母的表达型载体 pRS424GAL1pr 中。酵母细胞在半乳糖培养基中培养 3 小时后离心收集菌体观察 mOGT 在胞内的定位。显示红色荧光的为 RFP 标记的 mOGT 的定位，显示绿色荧光的为线粒体探针的信号。荧光共定位分析显示，如图 4（a）所示，在对照组的酿酒酵母细胞中，胞内线粒体的信号清晰可见，且形态正常。图 4（d）中箭头所示的位置显示 mOGT 表达的细胞中，RFP 的信号和线粒体探针的信号能很好的重合，这说明在酿酒酵母中表达的人体 mOGT 定位于酿酒酵母的线粒体上。

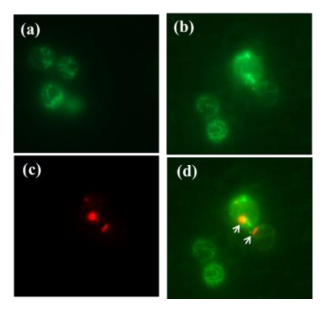


图 4 mOGT 位于酿酒酵母细胞的线粒体上

Figure 4 mOGT localized in yeast mitochondria

注：绿色荧光为线粒体探针的信号，红色荧光为 mOGT-RFP 的信号。（a）：对照组酿酒酵母细胞中转入空载质粒的线粒体形态；（b）：转入 C 端 RFP 标记的 mOGT 后的线粒体形态；（c）：（b）中细胞的 RFP 信号检测；（d）：（b）和（c）的图像重合。

The mitochondria structure (Green) and mOGT-RFP (Red) localizations were represented by fluorescent microscope. (a): the mitochondria structure of yeast cell with vector; (b): the mitochondria structure of yeast cell

with mOGT-RFP; (c): RFP signal of (b); (d): the overlayed image of (b) and (c).

2.4 MTS 序列导致酿酒酵母线粒体融合

在哺乳动物细胞中 mOGT 由其 N 端的 MTS 序列定位于线粒体内膜上，MTS 序列由 50 个氨基酸组成，其中前 15 个氨基酸被认为与其在线粒体内膜上的定位有关的信号肽，紧随其后的是跨膜的α螺旋，在海拉细胞 CCL2 中 N 端截短的 mOGT 不能定位到线粒体中[20]。Dona C. Love 等在海拉细胞中表达 N 端 MTS 序列缺失的 mOGT 能在细胞质中检测到，这说明截短的 mOGT 不能定位到线粒体中[20]。将 MTS 序列的 C 端融合标记 RFP，分析 MTS 序列与线粒体探针的定位，图 5（b）中 mOGT 的 N 端 15 个氨基酸融合的 RFP（MTS15-RFP）信号位于细胞质中，不能定位于线粒体中；而图 5（c）中 mOGT 的 N 端 50 个氨基酸融合 RFP（MTS50-RFP）的红色荧光信号呈现聚集的状态，全长的 MTS 序列与线粒体探针定位一致（图 5（d））。由此可见 mOGT 的 N 端 MTS 序列位于线粒体中，全长 MTS 的表达导致线粒体呈现出融合状态。

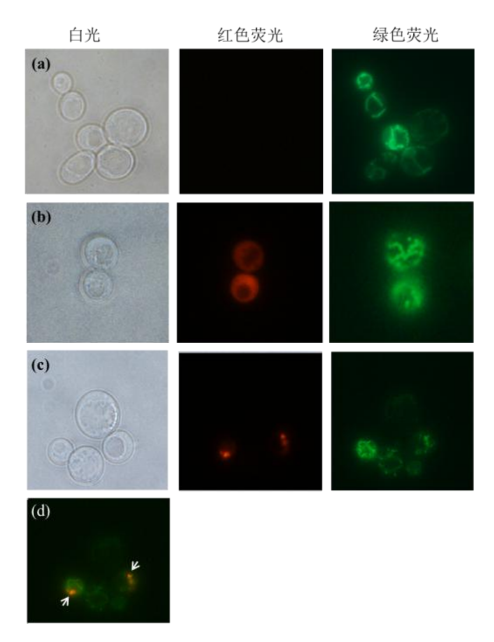


图 5 MTS 序列导致酿酒酵母线粒体融合

Figure 5 MTS sequence caused yeast mitochondria aggregation

（a）：对照组酿酒酵母细胞中转入空载质粒的白光、红色荧光、绿色荧光下的形态；（b）：酿酒酵母细胞中转入 MTS15-RFP 的白光、红色荧光、绿色荧光下的形态；（c）：酿酒酵母细胞中转入 MTS50-RFP 的白光、红色荧光、绿色荧光下的形态；（d）：（c）中红色荧光和绿色荧光重合图片。

The mitochondria structure (Green) and mOGT-RFP (Red) localizations of yeast cell with vector (a), MTS15-RFP (b), MTS50-RFP (c) were represented by fluorescent microscope under bright field, red fluorescent, green fluorescent models. (d): the overlayed image of red fluorescent and green fluorescent signals in (c).

在人胚胎肾成纤维细胞株 EcR-293 细胞及海拉细胞中过表达 mOGT 都能诱导细胞凋亡，而且该凋亡作用依赖于 mOGT 的 N 端 MTS 序列[21]，由此可以推测过载的 MTS 信号有可能成为细胞凋亡的诱因之一。红色荧光蛋白是常用的蛋白定位信号蛋白，对细胞无毒害作用。

本研究前期的结果也显示 OGA 过表达对酿酒酵母生长没有抑制作用。然而，在 RFP 和 OGA 蛋白的 N 端分别加上 MTS 序列使蛋白定位于线粒体中，点板分析发现表达 MTS 序列融合的蛋白会不同程度的抑制酿酒酵母的生长。

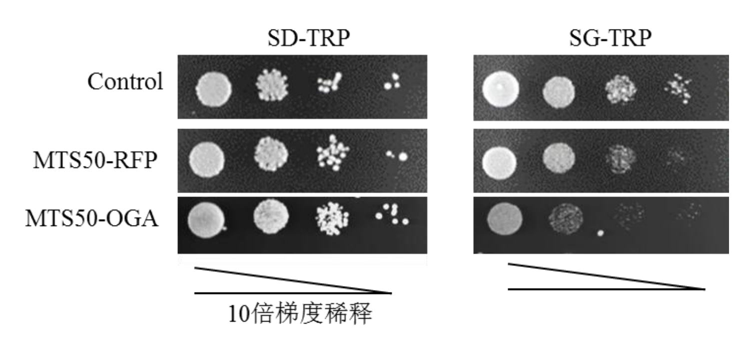


图 6 MTS 序列抑制酿酒酵母生长

Figure 6 MTS sequence caused yeast growth defect

3. 结论

酿酒酵母是最简单的，易于操作的真核生物之一，已被广泛应用于研究哺乳动物细胞的各个代谢调控过程，尤其是近年来在神经退行性疾病[22]，细胞凋亡[23]等方面的研究取得了较大进展。本研究以酿酒酵母为宿主菌探索人类 mOGT 导致的细胞凋亡的可能原因。从图 3C 中线粒体的形态上来看，对照组中线粒体呈现出良好的线形结构，而在 mOGT 过表达的酿酒酵母细胞中线粒体呈现出融合的形态。线粒体正常的融合和分裂活动是维持线粒体和细胞功能的必要生理现象[24]，mOGT 的过表达可能导致细胞中线粒体膜上信号序列过量，从而导致线粒体损伤。

在哺乳动物细胞中线粒体的功能和细胞程序性凋亡存在密切的联系，线粒体异常被认为是导致细胞程序性凋亡的"头号杀手"[25]。在酿酒酵母细胞中过表达人源促凋亡蛋白 Bax 发现该蛋白定位于酵母线粒体中，且 Bax 在线粒体中的定位及对酵母的致死作用依赖于线粒体穿膜领域，从而证明定位于线粒体的促凋亡蛋白的线粒体定位序列是导致酿酒酵母和人体细胞内毒性的重要因素之一[23]。近期在海拉细胞中过表达定位于线粒体外膜的蛋白 Omp34，研究发现 Omp34 会导致细胞凋亡，该凋亡过程通过破坏线粒体膜的电势导致线粒体结构的改变和细胞的凋亡[26]。mOGT 导致的酿酒酵母生长缺陷依赖于其 MTS 序列，该序列过表达导致酵母细胞的线粒体融合。在 MTS 序列 C 端标记蛋白质分子量越高对酵母细胞生长抑制作用越明显，这可能和他们对酵母线粒体损伤的程度有关，因此 MTS 表达的酿酒酵母有望成为人类细胞中 mOGT 过表达导致细胞凋亡的研究模型。

参考文献

［1］Hart G W. Minireview Series on the Thirtieth Anniversary of Research on *O*-GlcNAcylation of Nuclear and Cytoplasmic Proteins: Nutrient Regulation of Cellular Metabolism and Physiology by *O*-GlcNAcylation. Journal of Biological Chemmistry, 2014, 289(50): 34422-34423.

［2］Marshall S, Bacote V, Traxinger R R. Discovery of a metabolic pathway mediating glucose-induced desensitization of the glucose transport system. Role of hexosamine biosynthesis in the induction of insulin resistance. Journal of Biological Chemmistry, 1991, 266(8): 4706-4712.

［3］Vaidyanathan K, Wells L. Multiple Tissue-specific Roles for the *O*-GlcNAc Post-translational Modification in the Induction of and Complications Arising from Type II Diabetes. Journal of Biological Chemmistry, 2014, 289(50): 34466-34471.

［4］Ma Z, Vosseller K. Cancer Metabolism and Elevated *O*-GlcNAc in Oncogenic Signaling. Journal of Biological Chemmistry, 2014, 289(50): 34457-34465.

［5］Marsh S A, Collins H E, Chatham J C. Protein *O*-GlcNAcylation and Cardiovascular (Patho)physiology. Journal of Biological Chemmistry, 2014, 289(50): 34449-34456.

［6］Zhu Y, Shan X, Yuzwa S A, et al. The Emerging Link between *O*-GlcNAc and Alzheimer Disease. Journal of Biological Chemmistry, 2014, 289(50): 34472-81.

［7］Hanover J A, Yu S, Lubas W B, et al. Mitochondrial and nucleocytoplasmic isoforms of O-linked GlcNAc transferase encoded by a single mammalian gene. Archives of Biochemistry Biophysics, 2003, 409(2): 287-297.

［8］Burnham-Marusich A R, Berninsone P M. Multiple proteins with essential mitochondrial functions have glycosylated isoforms. Mitochondrion,2012, 12(4): 423-7.

［9］Ma J, Liu T, Wei A C, et al. O-GlcNAcomic Profiling Identifies Widespread O-Linked *β*-N-Acetylglucosamine Modification (*O*-GlcNAcylation) in Oxidative Phosphorylation System Regulating Cardiac Mitochondrial Function. Journal of Biological Chemmistry, 2015, 290(49): 29141-29153.

［10］Hu Y, Suarez J, Fricovsky E, et al. Increased enzymatic *O*-GlcNAcylation of mitochondrial proteins impairs mitochondrial function in cardiac myocytes exposed to high glucose. Journal of Biological Chemmistry, 2009, 284(1): 547-555.

［11］Lazarus M B, Nam Y, Jiang J, et al. Structure of human *O*-GlcNAc transferase and its complex with a peptide substrate. Nature, 2011, 469(7331): 564-567.

［12］Sacoman J L, Dagda R Y, Burnham-Marusich A R, et al. Mitochondrial *O*-GlcNAc transferase (mOGT) regulates mitochondrial structure, function and survival in HeLa cells. Journal of Biological Chemmistry,2017, 292(11): 4499-4518.

［13］Halim A, Larsen I S, Neubert P, et al. Discovery of a nucleocytoplasmic *O*-mannose glycoproteome in yeast. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America, 2015, 112(51): 15648-15653.

［14］Nakanishi H, Li F, Han B, et al. Yeast cells as an assay system for in vivo *O*-GlcNAc modification. Biochimica et Biophysica acta-General Subjects ,2017, 1861(5): 1159-1167.

［15］韩宝仙，高晓冬，中西秀树．人体线粒体 N-乙酰氨基葡萄糖转移酶在酿酒酵母中的表达.

食品与生物技术学报, 2016, 35(9): 987-992.

［15］Han B C, Gao X D, Nakanishi H. Expression of a human mitochondrial N-acetylglucosamine transferase in *Saccharomyces cerevisiae*. Journal of food science and biotechnology, 2016, 35(9): 987-992.

［16］Longtine M S, Mckenzie Iii A, Demarini D J, et al. Additional modules for versatile and economical PCR‐based gene deletion and modification in *Saccharomyces cerevisiae*. Yeast, 2010, 14(10): 953-961.

［17］Lubas W A, Frank D W, Krause M, et al. O-Linked GlcNAc transferase is a conserved nucleocytoplasmic protein containing tetratricopeptide repeats. Journal of Biological Chemmistry,1997, 272(14): 9316-9324.

［18］Mumberg D, Müller R, Funk M. Yeast vectors for the controlled expression of heterologous proteins in different genetic backgrounds. Gene,1995, 156(1): 119-122.

［19］Banerjee P S, Ma J, Hart G W. Diabetes-associated dysregulation of O-GlcNAcylation in rat cardiac mitochondria. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America, 2015, 112(19): 6050-6055.

［20］Love D C, Kochan J, Cathey R L, et al. Mitochondrial and nucleocytoplasmic targeting of O-linked GlcNAc transferase. Journal of Cell Science, 2003, 116(4): 647-654.

［21］Shin S H, Love D C, Hanover J A. Elevated O-GlcNAc-dependent signaling through inducible mOGT expression selectively triggers apoptosis. Amino Acids, 2011, 40(3): 885-893.

［22］Bocharova N, Chave-Cox R, Sokolov S, et al. Protein aggregation and neurodegeneration: clues from a yeast model of Huntington's disease. Biochemistry, 2009, 74(2): 231-234.

［23］Zha H, Fisk H A, Yaffe M P, et al. Structure-function comparisons of the proapoptotic protein Bax in yeast and mammalian cells. Molecular and Cellular Biology, 1996, 16(11): 6494-6508.

［24］Bossywetzel E, Barsoum M J, Godzik A, et al. Mitochondrial fission in apoptosis, neurodegeneration and aging. Current Opinion in Cell Biology, 2003, 15(6): 706-716.

［25］Mignotte B, Vayssiere J L. Mitochondria and apoptosis. European Journal of Biochemistry, 1998, 252(1): 1-15.

［26］安志远，丁文一.鲍曼不动杆菌 Omp34 经线粒体途径诱导 HeLa 细胞凋亡.生物技术, 2018, 28(4):323-328.

［26］An Zh Y, Ding W Y. The outer membrane protein of *Acinetobacter baumannii* induces apoptosis in Hela cells through mitochondria signal pathway. Biotechnology, 2018, 28(4):323-328.

Analysis of martrix targeting sequence of human mitochondrial OGT in *Saccharomyces cerevisiae*

LI Feng, GAO Xiao-Dong, NAKANISHI Hideki*

（Key Laboratory of Carbohydrate Chemistry and Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China）

Abstract Human mitochondrial *O*-GlcNAc transferase (mOGT) localized in mitochondria inner membrane through its N-terminal martrix targeting sequence(MTS), mOGT overexpression caused cell spoptosis. *O*-GlcNAc modification existed in most eukaryote cells except *Saccharomyces cerevisiae*. In order to analyze mOGT induced mammalian cell apoptosis, the mechanism of mOGT caused yeast cell growth defect was investigated. Herein, mOGT was overexpressed in *Saccharomyces cerevisiae*. Both yeast growth defect and mOGT localization were largely depends on MTS sequence. Furthermore, MTS expression caused yeast mitochondria fussion. Therefore, MTS overexpressed yeast cells might be applied to analyze mOGT caused cell apoptosis.

Key words human mOGT matrix-targeting sequence mitochondria fussion